

Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Metanol Daun Srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.)

Cytotoxic Activity Test of Extract Methanol Srigading Leaves (*Nyctanthes arbor-tristis* L.)

¹Nelly Mandasari, ²Siti Hazar, ³Esti Rachmawati Sadiyah

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung,
Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: ¹nellymandasari24@gmail.com, ²sitihazar1009@gmail.com, ³esti_sadiyah@ymail.com

Abstract. Cytotoxic compounds is a compound or substance that can be used to inhibit the growth of malignant tumor cells. This study aimed to test the cytotoxic activity of srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.) leaves methanol extract. Cytotoxic testing methods used in this research was the brine shrimp lethality test (BSLT) with shrimp (*Artemia salina* Leach) larval as test animals. Cytotoxic test parameters was LC_{50} value. A compound said to be cytotoxic when the LC_{50} value <1000 ppm. LC_{50} calculation was done using probit analysis method. The concentration of the methanol extract used were 0, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300 ppm. The result showed that the methanol extract LC_{50} value was 57,48 ppm.

Keywords: Cytotoxic, srigading leaves, *Artemia salina*, BSLT.

Abstrak. Senyawa sitotoksik adalah suatu senyawa atau zat yang dapat menghambat pertumbuhan sel tumor malignan. Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dari ekstrak metanol daun srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.). Metode pengujian sitotoksik yang digunakan pada penelitian ini adalah metode *brine shrimp lethality test* (BSLT) menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach) sebagai hewan uji dengan parameter LC_{50} . Suatu senyawa dikatakan beraktivitas sitotoksik apabila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm. Perhitungan LC_{50} dilakukan menggunakan metode analisis probit. Konsentrasi ekstrak metanol yang digunakan yaitu 0, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300 ppm. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai LC_{50} ekstrak metanol 57,48 ppm.

Kata Kunci: Sitotoksik, daun srigading, *Artemia salina*, BSLT.

A. Pendahuluan

Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit penyebab kematian utama di seluruh dunia. Metode pengobatan kanker saat ini belum memberikan hasil yang maksimal, dan bahkan memberikan efek samping yang merugikan. Oleh karena itu, metode pengobatan yang lebih aman sangat perlu dikembangkan. Salah satu metode pengobatan kanker yang telah dan masih dikembangkan adalah metode pengobatan kanker dari bahan alam. Prinsip penggunaan bahan alam agar dapat digunakan sebagai antikanker yaitu memiliki aktifitas sitotoksik. Senyawa sitotoksik merupakan suatu senyawa yang dapat merusak sel normal dan sel kanker, serta digunakan untuk menghambat pertumbuhan sel tumor malignan (Siregar dan Amalia 2004: 336).

Senyawa atau ekstrak yang diduga memiliki aktifitas antikanker, terlebih dahulu dapat dilakukan uji sitotoksik secara *in-vitro*. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas sitotoksik suatu senyawa atau ekstrak adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), dengan menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach) sebagai hewan uji dengan parameter $LC_{50} < 1000$ ppm (Meyer, *et al.*, 1982: 32).

Salah satu bahan alam yang memiliki potensi sebagai antikanker adalah tanaman srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.). Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Chidi, *et al.* (2015: 216) bahwa ekstrak etanol batang dan daun srigading mengandung senyawa kimia yaitu glikosida, flavonoid, senyawa fenolik, tanin, terpenoid, saponin, dan alkaloid. Penelitian tersebut juga melakukan pengujian aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol srigading dan memberikan hasil yang baik dalam aktivitas sitotoksik terhadap larva udang

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas sitotoksik dari ekstrak metanol daun srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.) terhadap kematian 50% larva udang (*Artemia salina* Leach) pada konsentrasi kurang dari 1000 ppm ($LC_{50} < 1000$ ppm). Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai aktivitas sitotoksik dari ekstrak metanol daun srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.) dalam skrining awal potensi antikanker.

B. Landasan Teori

Srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* Linn) merupakan tumbuhan asli sub-tropika Himalaya yaitu berasal dari negara Nepal dan India. Tanaman ini juga tersebar hingga bagian selatan dari India dan Asia Tenggara seperti Thailand, Malaysia dan Indonesia (Partomihardjo, 1999: 112-114). Berikut ini adalah klasifikasi srigading menurut Cronquist (1981: XVII, 948) dan Bandi, dkk (2011: 151):

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Lamiales
Suku	: Oleaceae
Marga	: Nyctanthes
Jenis	: <i>Nyctanthes arbor-tristis</i> Linn
Sinonim	: <i>Nyctanthes arbodica-charantia</i> Linn dan <i>Nyctanthes dentata</i>

BI (Dalimartha, 2008: 143).

Srigading telah dimanfaatkan sebagai pewarna dan minyak atsiri dalam bunga srigading memiliki aroma mirip dengan minyak bunga melati yang digunakan sebagai wewangian. Kulit pohon srigading dapat digunakan sebagai bahan penyamakan dan daun srigading dapat digunakan untuk memoles kayu dan gading. Di India dilaporkan bahwa daun bermanfaat sebagai obat peluruh empedu (*cholagogue*), peluruh keringat

(diaporetik) dan peluruh kencing (diuretik), dan ekstrak daun srigading digunakan sebagai obat cacangan pada anak-anak. Daun juga digunakan sebagai obat kuat (tonikum), demam dan rematik. Kulit batang dapat digunakan sebagai ekspektoran. Bubuk biji dari srigading digunakan untuk menyembuhkan penyakit kudis dari kulit kepala (Chauhan, 1999: 288).

Uji sitotoksik merupakan suatu metoda yang digunakan untuk menentukan apakah senyawa atau ekstrak berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antikanker atau tidak (Hartati, dkk., 2003: 198). BSLT merupakan salah satu metode uji toksisitas untuk menguji bahan-bahan yang bersifat sitotoksik dengan menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach) sebagai hewan percobaan. Uji toksisitas dengan metode BSLT merupakan uji toksisitas akut, yaitu efek toksik dari suatu senyawa ditentukan dalam waktu singkat setelah pemberian dosis uji (Wibowo, dkk., 2013:98).

Metode BSLT didasarkan pada prinsip penentuan nilai *Lethal Concentration* (LC_{50}) terhadap larva udang (*Artemia salina* Leach). LC_{50} adalah kemampuan suatu senyawa menyebabkan kematian 50% larva udang (Wibowo, dkk., 2013:98). Menurut Meyer (1982: 32), menyatakan bahwa pengujian sitotoksik dilakukan untuk melihat suatu senyawa memiliki potensi sitotoksik terhadap sel dengan parameter nilai $LC_{50} < 1000$ ppm.

Pengujian sitotoksik dengan metode BSLT menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach) sebagai hewan uji. *Artemia Salina* merupakan kelompok udang-udangan dari filum Arthropoda. Berkerabat dekat dengan zooplankton lain seperti copepoda dan daphnia (kutu air). *Artemia* hidup di danau-danau garam (berair asin) yang ada di seluruh dunia. Udang ini toleran terhadap selang salinitas yang sangat luas, mulai dari nyaris tawar hingga jenuh garam.

Berikut ini klasifikasi larva udang (*Artemia salina* Leach) menurut Mahyuddin (2010:131):

Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustacea
Sub kelas	: Branchiopoda
Bangsa	: Anostraca
Suku	: Artemiidae
Marga	: <i>Artemia</i>
Jenis	: <i>Artemia salina</i> Leach

C. Hasil dan Pembahasan

Bahan penelitian yang digunakan adalah daun srigading (*Nyctanthes arbor-tritis* L.) yang diperoleh dari Kebun Percobaan Cimanggu, Bogor. Bahan yang digunakan sebanyak 1500 g daun segar. Bahan tanaman dideterminasi di Herbarium Bandungense SITH, Institut Teknologi Bandung. Hasil determinasi menyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan adalah jenis *Nyctanthes arbor-tritis* L.

Daun srigading kemudian diolah menjadi simplisia dengan melewati beberapa tahap meliputi sortasi basah, pencucian, pengeringan dan penggilingan. Sortasi basah dilakukan terhadap daun srigading yang segar untuk membersihkan daun dari pengotor atau bahan asing yang ikut terbawa pada saat pengumpulan bahan seperti tanah, kerikil, rumput, gulma, dan bagian yang tidak diinginkan (Katno, 2008: 24-25). Selanjutnya daun dicuci menggunakan air bersih yang mengalir agar proses pencucian lebih sempurna. Pencucian bertujuan untuk membersihkan tanah dan kotoran yang tidak dapat dibersihkan pada saat sortasi basah. Selain itu juga dapat menurunkan jumlah mikroba yang menyebabkan rusaknya simplisia (Katno, 2008: 25).

Selanjutnya daun dikeringkan menggunakan lemari pengering. Proses

pengeringan bertujuan untuk menghentikan reaksi enzimatik pada bahan simplisia dan mengurangi kadar air di dalam bahan simplisia agar tidak mudah tercemari mikroorganisme dan jamur sehingga kualitas simplisia tetap baik (Katno, 2008: 31). Proses selanjutnya adalah penggilingan simplisia menjadi ukuran yang lebih kecil. Tujuan penggilingan mengoptimalkan proses penarikan senyawa alkaloid dalam daun Srigading pada saat proses ekstraksi. Ukuran simplisia yang diperkecil melalui proses penggilingan akan memperbesar luas permukaan untuk pelarut berpenetrasi sehingga proses ekstraksi lebih efektif (Nopika, 2012: 37).

Daun srigading diekstraksi terlebih dengan pelarut n-heksan. Hal ini dilakukan untuk menarik senyawa yang nonpolar seperti minyak atau lemak yang terdapat dalam simplisia (*defatting*). Selanjutnya residu hasil maserasi tersebut dimaserasi kembali menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol kemudian dilakukan uji sitotoksik terhadap larva udang *Artemia salina*. Penggunaan metanol sebagai pelarut pada proses maserasi bertujuan untuk menarik senyawa alkaloid sebagai senyawa target. Pemilihan senyawa alkaloid sebagai senyawa target dikarenakan alkaloid diketahui telah digunakan sebagai salah satu terapi untuk penyakit kanker seperti alkaloid vinca dan taxan (Neal, 2005: 92).

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia

Golongan Senyawa	Simplisia dan Ekstrak Metanol
Alkaloid	+
Flavonoid	+
Polifenolat	+
Saponin	+
Tanin	-
Kuinon	+
Monoterpen dan sesquiterpen	+
Triterpenoid dan steroid	+

Keterangan:

+ : Terdeteksi

- : Tidak Terdeteksi

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa pada simplisia dan ekstrak daun srigading terdapat senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, polifenolat, saponin, kuinon, monoterpen dan sesquiterpen, triterpenoid dan steroid. Hasil yang diperoleh Chidi, *et al.*, (2015: 208) bahwa daun srigading mengandung senyawa tanin. Setelah diketahui kandungan senyawa metabolit sekunder dari daun srigading kemudian dilakukan pengujian aktivitas sitotoksik. Berikut ini adalah tabel jumlah kematian larva udang (*Artemia salina* Leach).

Tabel 2. Hasil uji aktivitas sitotoksik pada larva udang (*Artemia salina* Leach)

Konsentrasi uji (ppm)	Log Konsentrasi	Jumlah larva mati	%Kematian	Nilai probit
0	0	0	0%	0,0
5	0,69	0,66 ± 1,15	6,66%	3,4037
10	1,00	2,33 ± 1,52	23,33%	4,2701
25	1,39	2,33 ± 1,52	33,33%	4,5684
50	1,69	2,33 ± 1,15	33,33%	4,5684
75	1,87	3,33 ± 1,15	56,66%	5,1662
100	2,00	5,66 ± 2,51	70,00%	5,5244
125	2,09	7,00 ± 1,00	80,00%	5,8416
150	2,17	8,00 ± 1,00	66,66%	5,4289
175	2,24	6,66 ± 3,21	86,66%	6,1077
200	2,30	8,66 ± 1,52	70,00%	5,5244
250	2,39	9,33 ± 0,57	93,33%	6,4985
300	2,47	9,66 ± 0,57	96,66%	6,8260

Tabel 2 menunjukkan bahwa pada konsentrasi konsentrasi 5 ppm telah teramati adanya kematian larva. Setelah didapat jumlah kematian larva kemudian dihitung LC_{50} dengan metode probit. Diperoleh persamaan regresi linier regersi linier dari kurva nilai probit (y) terhadap log konsentrasi (x) yaitu $y = 2,2144x + 1,1037$ ($R^2 = 0,8983$) dengan nilai $y = 5$, nilai LC_{50} diperoleh dari antilog $x = 57,4815$ ppm.

Nilai LC_{50} dari ekstrak daun srigading adalah 57,4815 ppm sedangkan menurut Chidi, *et al.*, (2015: 215) ekstrak etanol daun srigading sebesar 193.1716 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun srigading memiliki aktivitas sitotoksik lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak etanol daun srigading. Hasil penapisan fitokimia ekstrak metanol daun srigading hampir semua senyawa terdeteksi kecuali tanin sedangkan pada penelitian Chidi, *et al.*, (2015: 208) terdapat tanin. Hal ini menunjukkan adanya kemungkinan efek antagonis dari senyawa tanin yang menyebabkan lemahnya aktivitas sitotoksik dari ekstrak etanol daun srigading.

D. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol dan fraksi alkaloid daun srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.) terbukti memiliki aktivitas sitotoksik yang ditunjukkan dengan nilai $LC_{50} < 1000$ ppm yaitu ekstrak 57,4815 ppm.

E. Saran

Dari hasil penelitian diketahui bahwa ekstrak metanol daun srigading (*Nyctanthes arbor-tristis* L.) berpotensi sebagai antikanker, maka diharapkan penelitian dapat diteliti lebih lanjut mengenai aktivitasnya terhadap sel kanker dengan metode yang lebih spesifik terhadap kanker yaitu metode kultur sel kanker.

Daftar Pustaka

- Bandi, B. K., Venkatesan K., Mannaraou U. dan Keerthi M. (2011). Isolation and Partial Characterization of Alkaloids from Stem Bark of *Nyctanthes arbor-tritis*, *International Journal of Pharmaceutical and Biomedical Research* 2011, 2(3), 149-152.
- Chidi, B. B., Pandeya S, Gharti KP dan Bharati L. (2015). Phytochemical Screening and Cytotoxic Activity of *Nyctanthes Arbor-Tristis*, *Indian Research Journal of Pharmacy and Science*; 5(2015) 205-217.
- Chauhan, N. S. (1999). *Medicinal Aromatic Plants of Himachal Pradesh*. Baba Barkha, New Delhi.
- Cronquist, A. (1981). *An Integrated System of Classification of a Flowering Plants*, Columbia University Press, New York.
- Dalimartha, S. (2008). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid I*, Trubus Agriwidya, Jakarta.
- Hartati, W. M. S., Sofia M., Bolhuis R. L. H., Nooter K., Oostrum R. G., Boersma A. W. M, dan SubagusW. (2003). Sitotoksitas Rimpang Temu Mangga (*Curcuma Mangga* Val. & V. Zijp.) dan Kunir Putih (*Curcuma Zedoaria* I.) terhadap Beberapa Sel Kanker Manusia (In Vitro) dengan Metoda SRB. *Berkala Ilmu Kedokteran*. Vol. 35, No.4: 197-201.
- Katno. 2008. *Pengolahan Pasca Panen Tanaman Obat*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2T0-0T), Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI. Tawangmangu.
- Mahyuddin, K. (2010). *Panduan Lengkap Agribisnis Patin*, Penebar Swadaya, Jakarta
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobson, L. B., Nichols, D. E., dan McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45:31-34.
- Neal, M. J. (2006). *Medical Pharmacology at a Glance*, Erlangga, Jakarta
- Nopika, L. (2012). *Penetapan Kadar Alkaloid Total dari Ekstrak Etanol Umbi Lapis Bakung (*Hymenocallis littoralis* (Jacq.) Salisb.)* [Skripsi], Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung.
- Partomihardjo, T. (1999). *Tumbuhan-tumbuhan Penghasil Pewarna Tanin*. Prosea. Bogor.
- Siregar, C. J. P., dan Amalia, L. (2004) *Farmasi Rumah Sakit: Teori dan Penerapan, Buku Kedokteran EGC*. Jakarta, Indonesia
- Wibowo, S., Bagus S. S. U., Th. Dwi S., dan Syamdididi. (2013). *Artemia untuk Pakan Ikan dan Udang*, Penebar Swadaya Grup, Jakarta.